

HAIR TONIC

Publication number: JP10265350

Publication date: 1998-10-06

Inventor: TAKEOKA ERIKO; HAMADA CHIKA; SUZUKI JUN;
NAKAZAWA YOSUKE; TAJIMA MASAHIRO

Applicant: SHISEIDO CO LTD

Classification:

- International: A61K8/00; A61K8/97; A61K8/98; A61K35/64;
A61K36/07; A61K36/18; A61K36/23; A61K36/28;
A61K36/48; A61K36/53; A61K36/60; A61K36/73;
A61K36/75; A61K36/81; A61P17/00; A61Q5/00;
A61Q7/00; A61K8/00; A61K8/96; A61K35/56;
A61K36/06; A61K36/18; A61K36/185; A61P17/00;
A61Q5/00; A61Q7/00; (IPC1-7): A61K7/06; A61K35/64;
A61K35/78; A61K35/84

- European:

Application number: JP19970091537 19970326

Priority number(s): JP19970091537 19970326

Report a data error here

Abstract of JP10265350

PROBLEM TO BE SOLVED: To obtain a hair tonic capable of synergistically manifesting further hair growing activities by using the hair tonic with a component recognized as having activities for extending a hair growth period in combination. **SOLUTION:** This hair tonic contains an ingredient having activities for inhibiting testosterone-5 α -reductase and an ingredient having activities capable of maintaining and extending the growth period in hair cycle, especially the ingredient having activities capable of maintaining and extending the growth period in the hair cycle as active ingredients. The hair tonic manifests very superior hair growing activities because both ingredients synergistically manifests the activities.

Data supplied from the esp@cenet database - Worldwide

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平10-265350

(43) 公開日 平成10年(1998)10月6日

(51) Int.Cl. ⁶	識別記号	F I	
A 6 1 K 7/06		A 6 1 K 7/06	
35/64		35/64	
35/78		35/78	C
			T
			D

審査請求 未請求 請求項の数 3 F I (全 13 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願平9-91537	(71) 出願人	000001959 株式会社資生堂 東京都中央区銀座7丁目5番5号
(22) 出願日	平成9年(1997)3月26日	(72) 発明者	武岡 永里子 神奈川県横浜市港北区新羽町1050番地 株 式会社資生堂第1リサーチセンター内
		(72) 発明者	浜田 千加 神奈川県横浜市港北区新羽町1050番地 株 式会社資生堂第1リサーチセンター内
		(72) 発明者	鈴木 順 神奈川県横浜市金沢区福浦2-12-1 株 式会社資生堂第1リサーチセンター内
		(74) 代理人	弁理士 志村 光春 最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 育毛剤

(57) 【要約】

【課題】毛髪成長期延長効果が認められる成分と組み合わせで有効成分とすることで、相乗的に一層の育毛効果が発揮され得る育毛剤を提供すること。

【解決手段】テストステロン-5 α -レダクターゼを阻害する作用を有する成分及び毛周期における成長期を維持若しくは延長する作用を有する成分、特に毛周期における成長期を維持若しくは延長する作用を有する成分を有効成分とする育毛剤は、両成分が相乗的に働くことにより、非常に優れた育毛効果を発揮する。

【特許請求の範囲】

【請求項1】テストステロン-5 α -レダクターゼを阻害する作用を有する成分及び毛周期における成長期を維持若しくは延長する作用を有する成分を有効成分とする育毛剤。

【請求項2】毛周期における成長期を維持若しくは延長する作用を有する成分が、毛包上皮系細胞を増殖させる活性を有する成分である、請求項1記載の育毛剤。

【請求項3】毛包上皮系細胞を増殖させる活性を有する成分が、コンフリー抽出物、ウコン抽出物、タイソウ抽出物、コリアンダー抽出物、チョウセンアサガオ抽出物、サイシン抽出物、ヨクイニン抽出物、ステビア抽出物、アセンヤク抽出物、ゲンチアナ抽出物、ホップ抽出物、ヒキオコシ抽出物、アズキ抽出物、アルニカ抽出物、ハッカ抽出物、カンゾウ抽出物、ブクリョウ抽出物、ダイズ抽出物、シソ抽出物、キナ抽出物、スギナ抽出物、アンズ核粒抽出物、サンザシ抽出物、センキュウ抽出物、ケイヒ抽出物、レイシ抽出物、チョウジ抽出物、トウヒ抽出物及びローヤルゼリーからなる群の成分から選ばれる1種又は2種以上の成分である、請求項2記載の育毛剤。

【発明の詳細な説明】**【0001】**

【発明の属する技術分野】本発明は育毛剤に関する技術分野に属する発明である。より詳細には、テストステロン-5 α -レダクターゼを阻害する作用を有する成分及び毛周期における成長期を維持若しくは延長する作用を有する成分を有効成分とすることによって、相乗的な育毛作用を示す育毛剤に関する。

【0002】

【従来の技術】高齢化社会、ストレス社会といわれる現代社会では、頭部毛髪が様々な原因により脱毛の危機にさらされる機会がますます多くなっている。これに対応して、より優れた「育毛剤」を提供すべく様々な試みがなされている。育毛料が毛髪に与える効果として主なものに、①発毛誘導効果（発毛促進効果、成長期誘導効果）、②毛髪を太くする効果、③毛髪成長期延長効果、④テストステロン-5 α -レダクターゼ阻害効果、⑤血行促進効果、⑥殺菌効果、⑦フケ防止効果、⑧保湿効果、⑨抗酸化効果等の効果が挙げられる。

【0003】しかしながら、前記のように種々の試みがなされているにもかかわらず、従来の育毛料では、その脱毛防止、発毛効果等の育毛作用は必ずしも十分なものではなかった。これはおそらく脱毛の原因がさまざまであり、また発毛の機構も非常に複雑であるためと考えられている。今まで提供されている「育毛料」は、脱毛を比較的大雑把な概念、言い換えれば漫然と「脱毛」という現象のみを捉えて開発されており、そのメカニズムにまで突っ込んで着目して開発されたものは決して多くない。その大きな理由が、これらのメカニズムに着目した

育毛効果を簡便に検定することが可能な育毛薬剤検定方法が十分に提供されていなかったという面を否定できないことである。特に上記③の毛髪成長期延長効果を検定する育毛薬剤検定方法の確立は難しく、結果としてこれまで提供されてきた育毛料は、毛周期の成長期へと毛髪を誘導して育毛する上記①発毛誘導効果に着目したものが多かった。

【0004】

【発明が解決しようとする課題】本発明者は、従来このように漫然と配合されがちであった育毛成分を、上記した脱毛のメカニズムに考慮して配合することができれば、一層の育毛効果を発揮し得る育毛剤が提供される得ると考えた。その考え方の一つとして、上記③の毛髪成長期延長効果を検定する育毛薬剤検定方法を確立させて、この毛髪成長期延長効果を有する成分を見出し、この成分とこれ以外の他の効果を有する成分とを組み合わせることで有効成分とする育毛剤を提供することで、それぞれの効果が同時に毛髪に対して働く相乗効果を発揮する育毛剤を提供する、という考え方が挙げられる。

【0005】このような技術的な流れの中で、本発明者らは上記③の毛髪成長期延長効果を簡便かつ的確に検定し得る育毛薬剤検定方法を確立した。そこで、本発明が解決すべき課題は、この育毛薬剤検定方法等で上記③の毛髪成長期延長効果が認められる成分と組み合わせることで、相乗的に一層の育毛効果が発揮され得る育毛剤を提供することにある。

【0006】

【課題を解決するための手段】さらに本発明者は、この課題の解決に向けて鋭意検討を行った結果、上記の育毛薬剤検定方法で上記③の毛髪成長期延長効果が認められる成分と上記④のテストステロン-5 α -レダクターゼ阻害効果が認められる成分を組み合わせることで有効成分とする育毛剤を提供することにより、この課題を解決し得ることを見出した。

【0007】すなわち、本発明者は本願において以下の発明を提供する。請求項1において、テストステロン-5 α -レダクターゼを阻害する作用を有する成分及び毛周期における成長期を維持若しくは延長する作用を有する成分を有効成分とする育毛剤を提供する。

【0008】請求項2において、毛周期における成長期を維持若しくは延長する作用を有する成分が、毛包上皮系細胞を増殖させる活性を有する成分である、前記請求項1記載の育毛剤を提供する。

【0009】請求項3において、毛包上皮系細胞を増殖させる活性を有する成分が、コンフリー抽出物、ウコン抽出物、タイソウ抽出物、コリアンダー抽出物、チョウセンアサガオ抽出物、サイシン抽出物、ヨクイニン抽出物、ステビア抽出物、アセンヤク抽出物、ゲンチアナ抽出物、ホップ抽出物、ヒキオコシ抽出物、アズキ抽出物、アルニカ抽出物、ハッカ抽出物、カンゾウ抽出物、

ブクリョウ抽出物、ダイズ抽出物、シソ抽出物、キナ抽出物、スギナ抽出物、アンズ核粒抽出物、サンザシ抽出物、センキュウ抽出物、ケイヒ抽出物、レイシ抽出物、チョウジ抽出物、トウヒ抽出物及びローヤルゼリーからなる群の成分から選ばれる1種又は2種以上の成分である、前記請求項2記載の育毛剤。

【0010】

【発明の実施の形態】以下、本発明の実施の形態について説明する。

A. 本発明に関わる育毛剤（以下、本発明育毛剤という）は、「毛周期における成長期を維持若しくは延長する作用を有する成分を有効成分とする育毛剤」である。この毛周期における成長期を維持若しくは延長する作用を有する成分（以下、成長期延長成分ともいう）は、この作用により毛髪の伸長を促進することができる。

【0011】この成長期延長成分としては、例えばコンフリー〔別名ヒレハリソウ (*Symphytum Officinale* L.) ともいい、ヨーロッパ原産の多年生の草本である。〕の抽出物；ウコン (*Curcuma domestica* Valton) の抽出物（通常は根から抽出）；タイソウ〔ナツメ (*Zizyphus jube* Miller Var. *inermis* Rehder) 又はその近縁植物の果実〕の抽出物；コエンドロ属に属する植物〔例えば、コリアンダー サチバム (*Coriandrum sativum* L.) 等〕の抽出物（通常は、全草若しくは未熟果実から抽出）〔以下、コリアンダー抽出物という〕；チョウセンアサガオ属に属する植物〔例えば、シロバナチョウセンアサガオ (*Datura stramonium* L.)、ヨウシュチョウセンアサガオ (*Datura stramonium* L. var. *chalybea* Koch) 等〕の抽出物（通常、葉若しくは種子から抽出）〔以下、チョウセンアサガオ抽出物という〕；サイシン〔ウスバサイシン (*Asarum sieboldii* Miq.) 又はこれの変種若しくは亜種〕の抽出物（通常は、根部又は根茎部から抽出）；ヨクイニン〔ハトムギ (*Coix lachryma-jobi* L. var. *ma-yuen* Stapf) の果実からほうしょうと果皮、種皮を除いたもの〕の抽出物；ステビア (*Stevia rebandiana* Bertoni) の抽出物（通常、地上部から抽出）；アセンヤク (*Uncaria gambir* Roxburgh) の抽出物（通常は、葉又は若枝から抽出）；ゲンチアナ (リンドウ, *Gentiana lutea* L.) の抽出物（通常は、根又は根茎から抽出）；ホップ (*Humulus lupulus* L.) の抽出物（通常は、雌花穂（球果）から抽出）；ヒキオコシ〔ヤマハッカ属に属するヒキオコシ (*Isodon japonicus* Hara) 又はこれの変種若しくは亜種〕の抽出物（通常は延命草と呼ばれる葉から抽出）；

【0012】アズキ (*Azuki angularis* Ohwi) の抽出物（通常は、種子から抽出）；アルニカ (*Arnica montana* L.) の抽出物（通常は、花から抽出）；カンゾウ (*Glycyrrhiza glabra* L. 等) の抽出物（通常は、根又は根茎から抽出）；ハッカ (*Mentha arvensis* L. 等) の抽出物；ブクリョウの抽出物〔マツホド (*Poria cocos* Wolf) の通

例であり、外層をほとんどのぞいた菌核から抽出して得られる抽出物〕；ダイズ (*Glycine max* Merrill) の抽出物（通常は、種子から抽出）；シソ (*Perilla frutescens* Britton var. *acuta* Kudo 等) の抽出物（通常は、葉又は枝先から抽出）；キナ (*Cinchona succirubra* Pavon et Klotzsch 等) の抽出物（通常は、樹皮から抽出）；スギナ (*Equisetum arvense* L.) の抽出物（通常は、全草から抽出）；ホンアンズ (*Prunus armeniaca* L. 等) の核（内果皮）の乾燥粉碎物から抽出される植物抽出物（以下、アンズ核粒抽出物という）；サンザシ (*Crataegus cuneata* Siebold et Zuccarini) の抽出物（通常、果実から抽出）；センキュウ (*Cnidium Rhizome* Makino) の抽出物（通常、根茎から抽出）；*Cinnamomum cassia* Blume 又はその近縁植物の樹皮から抽出されるケイヒ抽出物；マンネンタケ子実体から抽出されるレイシ抽出物；チョウジ (*Syzygium aromaticum* Merrill et Perry) の抽出物（通常、つぼみから抽出）；ダイダイ (*Citrus aurantium* L. subsp. *amara* Engl.) の成熟した果皮から蒸留して得られる精油であるトウヒ抽出物；ローヤルゼリー、サイクロスポリンA、レチノール等を挙げることができるが、これらの成分に限定されるものではない。なお、これらの成分を毛髪成長期延長成分として単独で本発明育毛剤に配合することもできるが、2種以上を組み合わせることも可能である。

【0013】上記の毛髪成長期延長成分であるか否かの判断は、その判断方法自体が成長期延長作用を特定するために妥当なものである限り特に限定されず、例えば *in vitro* における特定法も、*in vivo* における特定法も用いることができるが、その簡便性と有効性を考慮すると、*in vitro* における特定法を用いることが好ましい。

【0014】以下、この *in vitro* における特定法の一つである、毛包系上皮培養細胞の増殖効果を検討することを特徴とする特定法について簡単に説明する（より具体的には、実施例において記載する。）。

【0015】すなわちこの特定法は、「毛包上皮系培養細胞に無血清培地中で対象物質を接触させて、その細胞の増殖活性の有無及び／又は強弱を特定することにより、その対象物質の毛周期における成長期を維持若しくは延長する効果を検定する育毛剤検定方法」、すなわち毛髪の伸長に直接的に関係する毛包上皮系細胞に着目し、この培養細胞を用いることによって、所望する毛周期における成長期を維持若しくは延長する効果を特定する、*in vitro* の育毛剤検定方法である。

【0016】この育毛剤検定方法においては、動物（ヒトを含む、以下同様である）の毛包上皮系細胞を単離して得た培養細胞である「毛包上皮系培養細胞」に対象物質を接触させて、その増殖の有無及び／又は強弱を特定する。毛包上皮系細胞は、特に毛根近傍の外毛根鞘細胞とマトリクス細胞とを併せた部分の細胞のことを指

し、内側の毛乳頭細胞とそれを覆う基底膜部分は除外される。毛根の根幹部分に位置する毛乳頭細胞は、この毛包上皮系細胞に働きかけてその増殖を促すことで毛の伸長を促進する。

【0017】毛周期における成長期は、まさにこの毛髪が伸長している時期、すなわち毛包上皮細胞が分裂して増殖している時期であり、同退行期及び休止期は、これが鈍化して休止する時期である。つまり、毛周期における成長期を維持若しくは延長させる物質は、その投与により毛包上皮系細胞の分裂及び増殖活性を維持することによって、毛髪が毛周期における退行期及び休止期への移行を防ぐ物質、すなわち毛包上皮系細胞の増殖を促進又は維持し続ける物質であることが結論付けられる。

【0018】なお、その他のin vitroの育毛薬剤検定方法として、例えば対象物質を動物の毛乳頭細胞に作用させて、その増殖促進効果を判定する方法等を挙げることができる。

【0019】また、in vivoにおける判断方法としては、例えば「ヌードマウスに対象物質を投与し、このヌードマウスの体表の発毛部位の状態を特定して、対象物質の毛周期における成長期を維持若しくは延長する効果を検定する育毛薬剤検定方法」、すなわち原則的には無毛であるが、その体表に経時的にその発毛部位が移動する特徴的な発毛をするヌードマウスにおける発毛部位の広さと発毛部位の移動速度を特定することによって、毛周期における成長期の長さを検定する方法等を挙げることができる。

【0020】B. また、本発明育毛剤は、前記の成分と共に「テストステロン-5 α -レダクターゼを阻害する作用を有する成分」を有効成分とする育毛剤である。テストステロン-5 α -レダクターゼを阻害する作用を有する成分（以下、5 α -レダクターゼ阻害成分ともいう）は、この作用により頭部における5 α -レダクターゼの作用による脱毛を阻害することができる。

【0021】この5 α -レダクターゼ阻害成分としては、例えばシャクヤク〔シャクヤク(*Paeonia albiflora* Pall. var. *trichocarpa* Bunge)又はこれの変種若しくは亜種〕の抽出物（全草から抽出可）；ハッカ抽出物；サンザシ抽出物；ジャンカン〔アオギリ科(*Sterculiaceae*)に属するスタークリアフォエチダ(*Sterculia foetida* L.)等に由来し、その果皮を主な抽出対象とする〕の抽出物；ウォロ〔ヤシ科(*Palmae*)に属するボラッサスフラベリフェア(*Borassus flabellifera* L.)等に由来し、その花を主な抽出対象とする〕の抽出物；ダウン・トラウズ〔クスノキ科(*Lauraceae*)に属するリッツアエオドリフェラ(*Litsea odorifera* Val.)等に由来し、その果実を主な抽出対象とする〕の抽出物；コリアンダー抽出物等を挙げることができる。

【0022】また、モモ抽出物、キンミジヒキ抽出物、ボケ抽出物、クサボケ抽出物、オンボツ抽出物、ヒワ抽

出物、ヤマザクラ抽出物、ヘビイチゴ抽出物、オランダイチゴ抽出物、ボンンティラ抽出物、トルメンチラ抽出物、アーモンド抽出物、アンズ抽出物、トウニン抽出物、オウヒ抽出物、ウメ抽出物、ユスラウメ抽出物、ダイコンソウ抽出物、バクチクノキ抽出物、テリハイバラ抽出物、ナナカマド抽出物、セイヨウバラ抽出物、キイチゴ抽出物、トックリイチゴ抽出物、シマバライチゴ抽出物、エビガライチゴ抽出物、ワレモコウ抽出物、シモツケ抽出物、チシマザクラ抽出物、フユイチゴ抽出物、フクボン抽出物、カリン抽出物、カシ抽出物、テンモンドウ抽出物、バクモンドウ抽出物、エンゴサク抽出物、コウブシ抽出物、コロロボ抽出物、コンズランゴ抽出物、サンシュユ抽出物、サンズコン抽出物、サンシチソウ抽出物、セイヨウノコギリソウ抽出物、トコン抽出物、ミツガシワ抽出物、セレンオア抽出物、アセンヤク抽出物、ウイキョウ抽出物、オンジ抽出物、カンゾウ抽出物、ケンゴシ抽出物、ゴバイシ抽出物、シャクヤク抽出物、シャゼンシ抽出物、センソ抽出物、ダイオウ抽出物、チョウジ抽出物、ビンロウジ抽出物、ロジン抽出物、カッコウアザミ抽出物、ゲンノショウコ抽出物、カゴソウ抽出物、サイコ抽出物、インチン抽出物、エイジツ抽出物、ヨクイニン抽出物、ソヨウ抽出物、ニガキ抽出物、

【0023】ケイガイ抽出物、キササゲ抽出物、ジョウザン抽出物、カノコソウ抽出物、ウスベニアオイ抽出物、ヤクモソウ抽出物、ゴボウシ抽出物、サイカチ抽出物、サンシシ抽出物、キンモクセイ抽出物、セドロソ抽出物、イエルバルレイサ抽出物、アチコリア抽出物、マチコ抽出物、カルドサント抽出物、オルティガニグラ抽出物、チャンカビエドラ抽出物、華古茶の葉若しくは茎の抽出物、ワタの種子の抽出物、イチイの葉若しくは樹皮の抽出物、ガラナの種子の抽出物、エピカキテン、エピガロカキテン、エピガロコテキンガレード、グリチルレチン酸、シノール、シノール類似体、特定の不飽和脂肪酸（リノール酸、ペトロセリン酸）等の不飽和脂肪酸等を例示可能であるが、これらの成分に限定されるものではない。なお、これらの成分を α -レダクターゼ阻害成分として単独で本発明育毛剤に配合することもできるが、2種以上を組み合わせることも可能である。

【0024】上記の α -レダクターゼ阻害成分であるか否かの判断は、その判断方法自体が5 α -レダクターゼの阻害作用を特定するために妥当なものである限り特に限定されない。例えば、テストステロンから、いわゆる作用型アンドロゲンと称される5 α -ジヒドロテストステロンへの変換に関与する、テストステロン-5 α -レダクターゼに対する阻害活性をin vitroで特定する方法等を例示することができる。

【0025】上記の諸成分のうち植物由来の抽出物を抽出する際には、植物由来の抽出物を抽出する際に一般的

に用いられる方法で行うことができる。すなわち、前記した植物を、生のまま、又は必要により乾燥した後、そのまま若しくは粉碎して溶媒抽出に供することにより得ることができる。この際用い得る溶媒は、植物からその植物の成分を抽出する際に用いられる一般的な溶媒を用いることが可能であり特に限定されず、例えば熱水；メタノール、エタノール、イソプロパノール、*n*-ブタノール等の低級アルコール；プロピレングリコール、1,3-ブチレングリコール等の多価アルコール；これらのアルコール類の含水物；*n*-ヘキサン、トルエン等の炭化水素系溶媒等を挙げることができるが、メタノールやエタノール等の低級アルコールを抽出溶媒として用いるのが好ましい。これらの低級アルコールを抽出溶媒として用いる場合、得られる抽出液をそのまま本発明毛髪成長期延長剤の有効成分として配合することができるが、抽出溶媒を一旦留去し、必要により乾燥後に配合することも可能である。また、本発明育毛剤においては、前記諸成分の市販品をも用いることができることは勿論である。

【0026】本発明育毛剤における上記諸成分の配合量（成長期延長成分及び 5α -レダクターゼ阻害成分の配合量の和）は、本発明育毛剤の具体的形態等に応じて適宜選択し得るものであり、特に限定されるべきものではないが、概ね本剤全体に対して乾燥物として0.0005重量%以上、20.0重量%以下、好ましくは同0.01重量%以上、10.0重量%以下となるように配合される。

【0027】本剤全体に対して乾燥物として0.0005重量%未満の配合量では、本発明の所期の効果である毛包系細胞増殖作用に基づく育毛効果が十分に発揮されず好ましくなく、同20.0重量%を超えて配合しても、配合量の増加に見合った効果の増大を見込めないばかりではなく、製剤上支障をきたす傾向が顕著となり好ましくない。

【0028】また、成長期延長成分と 5α -レダクターゼ阻害成分との配合割合は、本発明育毛剤の具体的形態や具体的に選択する成分に応じて適宜選択するべきものであり、特に限定されるべきものではないが、概ね等量で配合することが好ましい。この配合割合から逸脱する範囲で、上記諸成分を本発明育毛剤中に配合すると、片方の作用が強くなりすぎ、所望する相異なる作用を有する成分を組み合わせる配合することによる、相乗的な育毛効果が発揮されなくなる傾向にあり好ましくない。

【0029】このように本発明育毛剤は、上記の成長期延長成分及び 5α -レダクターゼ阻害成分を有効成分とする育毛剤であり、①優れた毛包上皮系細胞増殖活性化作用等に基づく毛髪成長期延長促進作用と② 5α -レダクターゼ阻害作用による脱毛防止作用とを有し、これら両者の成分が毛髪に対して相乗的に働くことにより、すなわち毛包上皮系細胞の増殖活性が維持されて成長期が

延長すると共に、毛髪の頭皮における定着率が向上することにより、非常に優れた育毛作用を発揮する。

【0030】本発明育毛剤は、例えば相対的に成長期毛よりも休止期毛の割合が多くなってしまいうことに起因する脱毛症や、 5α -レダクターゼが過度に亢進することによる脱毛症に対して特に有効な薬剤である。また、他の個別効能を有する育毛料と組み合わせる用いることにより、他の脱毛症において相乗的な効果を上げることにもまた可能である。

【0031】本発明育毛剤が採り得る剤型は、外皮に適用可能な剤型であれば特に限定されず、例えば液状、乳液、軟膏等を選択可能である。また、本発明育毛剤の形態は任意であり、例えばトニック、ヘアークリーム、ムース、シャンプー、リンス、クリーム、乳液、化粧水、パック等の形態を採ることができる。

【0032】本発明育毛剤においては、前記の必須成分に加えて必要に応じて、かつ本発明の所期の効果を損なわない限りにおいて、化粧品、医薬部外品、医薬品等において一般的に用いられる各種油性若しくは水性成分、保湿剤、増粘剤、防腐剤、酸化防止剤、香料、色剤、各種薬剤等を配合することができる。

【0033】例えば、高級脂肪酸、固形パラフィン、流動パラフィン、シリコン油、スクワラン、モノオレイン酸グリセリル、オリーブ油、イソプロピルミリステート、高級脂肪酸、高級アルコール等の油分；グリセリン、ヒアルロン酸、プロピレングリコール、マルチトール、アテロコラーゲン、乳酸ナトリウム等の保湿剤；マルメロ粘質物、カルボキシビニルポリマー、キサンタンガム等の増粘剤；ニコチン酸アミド、ニコチン酸ベンジル、ビタミンEアセテート、センブリ抽出物、塩化カルプロニウム、アセチルコリン誘導体等の血管拡張剤；セリン、メチオニン、アルギニン等のアミノ酸類；ビタミンB₆、ビタミンE（若しくはその誘導体）、ビオチン、パントテン酸（若しくはその誘導体）等のビタミン類；ニコチン酸、ニコチン酸メチル、ニコチン酸トコフェロール等のニコチン酸エステル類；セファランチン等の皮膚機能亢進剤；エストラジオール等の女性ホルモン剤；グリチルレチン酸（若しくはその誘導体）等の消炎剤；ヒノキチオール、ヘキサクロロフェン、ベンザルコニウムクロリド、ピチオノール等の抗菌剤；メントール等の清涼剤；サリチル酸、亜鉛（若しくはその誘導体）、乳酸（若しくはそのアルキルエステル）等；クエン酸等の有機酸類等を配合することができる。本発明育毛剤の具体的処方後述する。

【0034】

【実施例】以下、実施例等により本発明をさらに具体的に説明するが、この実施例等により本発明の技術的範囲が限定的に解釈されるべきものではない。なお、以下の実施例等において「%」と表示され、かつ内容量を示すものは、特に断らない限り重量%を意味する。まず、対

象物質の毛髪成長期延長促進作用を評価するためのin vitroの細胞増殖試験について説明する。

【0035】〔試験例1〕毛包上皮系培養細胞を用いた細胞増殖試験

A. ヒト毛包上皮系細胞

1. ヒト毛包上皮系細胞の採取

外科手術の副産物として得られたヒト男性頭皮から毛周期における成長期の毛包を実体顕微鏡下で機械的に採取した。この成長期の毛包を1000 U/ml dispase・0.2 % コラゲナーゼを含むダルベッコの改変MEM (DME M) で30分間、37℃で処理し、注射針の先を用いて dermal sheath や dermal papilla、毛球部上皮組織を除去して、0.05%トリプシン・0.02%EDTAを含むリン酸緩衝液〔PBS (-) : (-)とはカルシウムイオンやマグネシウムイオンを含まない意味である〕で5分間、37℃で処理した。次にコラーゲン (Type I) コーティングした培養皿に毛包を静置し、外殖片培養を行った。なおこの際の培地は、無血清培地〔Keratinocyte Growth Medium (KGM)〕を用いた (Keratinocyte Serum Free Mediumを用いることもできる)。

【0036】この培養の4〜5日後に、毛包の培養皿への接着及び細胞の増殖が確認できた時点で培地を交換し、これ以降2日おきに培地交換を行った。このようにして増殖させた細胞を、0.05wt%トリプシン-0.02 % EDTAで37℃で5分間処理した後、等量の0.1 %トリプシンインヒビターで反応を停止させ、遠心処理(800×g, 5分間)を施して細胞を回収した。次に、細胞を上記の無血清培地に浮遊させて、5000 cells/cm²の密度でコラーゲンコーティング (Type I) した培養皿に播種し、細胞がsubconfluentになるまで2日おきに培地交換を行い、再び0.05wt%トリプシン-0.02 % EDTAで37℃で5分間処理した後、等量の0.1 %トリプシンインヒビターで反応を停止させ、遠心処理(800×g, 5分間)を施して、これにより得られたヒト毛包上皮系細胞に細胞凍結液(セルバンカー：ダイヤトロン製)を添加し、1.0×10⁶ cell/mlの濃度に調整して、各凍結チューブに1.0×10⁶ cellずつ入れ、これを凍結保存した。なお、これらの細胞数は、血球算定板で算出した。

【0037】2. 対象物質のアッセイ

上記工程により得た毛包上皮系細胞の線維芽細胞混入率 (FB混入率)を測定 (3000倍、5視野)し、その結果FB混入率が3%以上のものは、アッセイの対象から除外した。そして、この毛包上皮系細胞を培養フラスコ中に播種後、これを0.05%トリプシンと0.02 % EDTAで処理した後、0.1 %トリプシンインヒビターで反応を停止後、系を1500rpmで5分間遠心処理を施し、上清を除去し、残渣にKGM培地20mlを添加して、細胞懸濁液を調製した。

【0038】0.2ml/wellの割合で、96well-plate (I型コラーゲンコーティングプレート：ファルコン社

製)に播種し(1.0×10⁴ cell/well)、細胞がウエルの底に沈むまで約20分間室温下で放置した。その後、37℃、5%CO₂で1日間培養を行い、所望するヒト毛包上皮系培養細胞を得た。

【0039】B. ラット毛包上皮系細胞

1. ラット毛包上皮系細胞の採取：

(1) 毛包の採取

新生児 (3〜4日令) のラットをエタノールで消毒後、二酸化炭素で屠殺し、これらのラットの背部皮膚をハサミで採取した。次いで、この採取した背部皮膚を1% P S F 含有 P B S (-) に2枚ずつ浸した。その後、皮膚脂肪層から下の皮下脂肪や皮膜等を解剖用ハサミで除去した。次いで、再びこの背部皮膚を1% P S F 含有 P B S (-) に浸し、さらにこれを0.25%トリプシン含有 P B S (-) (0.02%EDTA含む。以下、同様である。)中に4℃で一晩浸した。

【0040】このトリプシン溶液中における浸漬後、背部皮膚の真皮層と表皮層をピンセットで剥がした後、真皮層を0.35%のコラゲナーゼを含有させたHam's F12培地〔組成(mg/L) : l-Alanine(8.9), l-Arginine (HCl:211), l-Asparagine(13.2), l-Asparatic acid(13.3), l-Cysteine (HCl:31.5), l-Glutamic acid(14.7), l-Glutamine(146), Glycine(7.5), l-Histidine (HCl:19), l-Isoleucine(3.9), l-leucine(13.1), l-Lysine(HCl:36.5), l-Methionine(4.5), l-Phenylalanine(5.0), Proline(34.5), l-Serine(10.5), l-Threonine(11.9), l-Tryptophan e(2.0), l-Tyrosine(5.4), l-Valine(11.7), Biotine(0.0073), Choline(Cl:14.0), VitaminB12(1.36), 葉酸(1.32), Inositol (18.0), Nicotinamide(0.037), パントテン酸(Ca:0.477), VitaminB6(HCl:0.062), VitaminB2(0.038), VitaminB1(HCl:0.337), CaCl₂ (2H₂O:44.0), CuSO₄ · 5H₂O(0.0025), FeSO₄ · 7H₂O(0.834), KCl(224.0), MgCl₂ (6H₂O:122), "Proc.Natl.Acad.Sci.USA, 53, 288(1965)" 以下同様である〕が入った100 mm dish 移し、ハサミで裁断した。この裁断物を含む培地を37℃で35分間浸透を行った (60rpm)。浸透後、このコラゲナーゼ反応物中に塊状のものが見えなくなるまでピペッティングを行い、これを50ml遠沈管に移し、DNase (10000unit) を含有させたHam's F12培地を添加し、5分間放置した。

【0041】放置後、得られた懸濁液をさらにピペッティングした後、ナイロンメッシュ (Nytex 157 mesh) で濾過し、これを50ml遠沈管に移した。懸濁液を半量ずつに分け、それぞれについてPBS (-) を容量が30mlになるまで懸濁液を希釈し、次いでこの希釈した懸濁液に遠心処理を施した (4℃, 400rpm, 5分間)。遠心後、上清を除いて脂肪分を系から除去した。次いで、残渣にPBS (-) を25ml添加して懸濁後、これにさらに遠心処理を施した (4℃, 400rpm, 5分間) × 3回。この遠心操作により得られた残渣が、ラ

ットの背部皮膚における毛包である。

【0042】(2) 毛包上皮系細胞の採取

上記操作により得られた毛包に、0.25%トリプシン含有PBS(ー)を5ml添加して、細胞懸濁液を37℃で5分間インキュベートした。インキュベート終了後、5mlの等量の牛胎児血清(FBS)とHam's F12培地を添加して、細胞懸濁液をセルストレーナー(100 μ m Nalgene 社製)で濾過後、50ml遠沈管に入れて、この細胞懸濁液に遠心処理を施した(4℃, 1500rpm, 5分間)。この系から上清を除去して、残渣として所望する毛包上皮系細胞を得た。

【0043】この毛包上皮系細胞に細胞凍結液(セルバンカー:ダイアトロン製)を添加し、 1.5×10^7 cell/mlの濃度に調整して、各凍結チューブに 1.5×10^7 cellずつ入れ、これを凍結保存した。なお、これらの細胞数は、血球算定板で算出した。

【0044】2. 毛包上皮系細胞の前培養: 系に混入している線維芽細胞を可能な限り系から除去するために、上記工程により得られた毛包上皮系細胞の前培養を行った。以下、その手順について説明する。37℃の恒温槽で、上記工程により得た凍結細胞を融解した。次いでFAD培地〔Ham's F12培地(後述)とMEN培地を容量比で3対1で混合したものに、インシュリン(5.0 μ g/ml)、ハイドロコルチゾン(0.45 μ g/ml)、エビダーマルグロウスファクター(EGF)(10.0ng/ml)、コレラトキシン(10^{-9} M)及びウシ胎児血清(10%)を含有させた培地、以下同様である〕を10ml添加し、細胞溶液を希釈して系に遠心処理を施した(10℃以下, 1500rpm, 5分間)。遠心後、上清を除去し、系にFAD培地を10ml添加して、細胞塊が認められなくなるまでピペッティングを繰り返した。

【0045】得られた細胞数を血球算定板で算出し、FAD培地で 2.5×10^5 cell/mlの濃度になるように調整した。I型コラーゲンでコーティングした75cm³のフラスコに細胞を播種して、これを37℃, 5%CO₂で一晩培養した。培養後、系をPBS(ー)10mlで2回洗浄し、0.25%トリプシン含有PBS(ー)を2ml添加して、これを37℃, 5%CO₂で4分間インキュベートした。次に、系に牛胎児血清(FBS)を2ml添加して、1回軽くゆすった後で上清を除去して、系に混入している線維芽細胞を除去した。

【0046】さらに、系にKGM培地〔表皮角化細胞基礎培地(Keratinocyto growth medium): Keratinocyto basal medium (KBM培地(改変MCDB153培地(クローネティックス社製)))に、ウシ脳下垂体エキス(BPE)(0.4vol%), インシュリン(0.5 μ m/ml), ハイドロコルチゾン(0.5 μ m/ml), h-EGF(0.1 ng/ml)を添加した培地、以下同様である〕を15ml添加し、37℃, 5%CO₂で3日間培養した。

【0047】3. 対象物質のアッセイ

上記工程により得た毛包上皮系細胞を播種した培養フラスコの線維芽細胞混入率(FB混入率)を測定(3000倍, 5視野)し、その結果FB混入率が3%以上のものは、アッセイの対象から除外した。系をPBS(ー)10mlで2回洗浄し、0.25%トリプシン含有PBS(ー)を2ml添加して、これを37℃で3分間インキュベートした。次いで上皮系細胞と線維芽細胞とのトリプシンに対する反応性の違いを利用して、系から線維芽細胞を除去するために、トリプシンを除去し、再び0.25%トリプシン含有PBS(ー)を2ml添加して、37℃, 20rpmで5分間振盪した。

【0048】次いで、細胞のはがれを顕微鏡下で確認した後、10%FBS含有DMEM培地を10ml添加して、50ml遠心チューブ中でピペッティングを行い、系を1500rpmで5分間遠心処理を施した。上清を除去し、KGM培地20mlを添加して、細胞塊がなくなるまでピペッティングを行った。懸濁液をセルストレーナー(100 μ m Nalgene 社製)で濾過後、50ml遠沈管に入れて、懸濁液中の生細胞数を血球算定板で算出し、系にKGM培地を添加して、系の中の細胞濃度が 5.0×10^4 cell/mlになるように調整した。

【0049】次いで、0.2ml/wellの割合で、96well-plate(I型コラーゲンコーティングプレート: ファルコン社製)に播種し(1.0×10^4 cell/well)、細胞がウエルの底に沈むまで約20分間室温下で放置した。その後、37℃, 5%CO₂で1日間培養を行い、所望するヒト毛包上皮系培養細胞を得た。

【0050】C. 試験培地の調製:

(1) 抽出物の調製

市販のコンフリー(乾燥物)500gを、7.5lの30%エタノールに室温(23℃)で5日間浸漬した。抽出液から溶媒を留去し、コンフリーの30%エタノール抽出乾燥物50gを得た。また、市販のカモミラ(乾燥物)500gを、7.5lの水に室温(23℃)で5日間浸漬した。抽出液から溶媒を留去し、次いで乾燥してカモミラの水抽出乾燥物100gを得た。

【0051】その他の植物抽出物についても、市販の該当する植物(原則として乾燥物)を入手して、下記第1表に示す抽出方法で抽出して、それぞれの乾燥抽出物を調製した。なお、ローヤルゼリーは市販のローヤルゼリー粉末を用いた。

【0052】(2) 対象物質添加培地の調製

対象物質を約1.5mgスクリュウ管に秤量し、有機溶剤(DMSO)で0.2%溶液になるように調製した。次いで、上記の生薬抽出物のDMSO溶液を1000倍量の前記KBM培地に添加した〔抽出物濃度: 2.0×10^{-4} % (DMSO 0.1%)〕。

【0053】なお、対象物質として用いた生薬抽出物等は、コンフリー抽出物、アルニカ抽出物、ハッカ末、ダイズ抽出物、キナ抽出物、スギナ抽出物、チョウジ抽出

物、ホップ抽出物、シソ抽出物、アセンヤク抽出物、アズキ末、サイシン抽出物、チンピ抽出物、ケイヒ抽出物、ブクリョウ抽出物、アロエ抽出物、レイシ抽出物、ゲンチアナ抽出物、カンゾウ抽出物（カンゾウフラボノイドを含む）、ショウブ根、ウコン抽出物、トウヒ抽出物、ステビア抽出物、サンザシ抽出物、センキュウ抽出物、タイソウ抽出物、サフラン抽出物、ヒキオコシ抽出物、ヨクイニン抽出物、アンズ核粒抽出物、コリアンダー抽出物、チョウセンアサガオ抽出物及びローヤルゼリーであった。

【0054】また同様に対照として、チャ抽出物（抽出法：水抽出）、バクモンドウ抽出物（抽出法：10%エタノール抽出）の0.2%DMSO溶液を調製した。これらの対象物質添加培地0.2mlを、0.1%DMSO含有KBM培地1.8mlに添加し、対象物質の濃度を $2.0 \times 10^{-5}\%$ になるように調製した（10倍希釈）。

【0055】（2）コントロール培地の調製

・ネガティブコントロール：KBM培地2mlに、DMSOを2 μ l添加して調製した（DMSO 0.1%）。

・ポジティブコントロール：ネガティブコントロール培地に、インシュリン（5mg/ml）を2 μ l、ハイドロコ-

細胞増殖度の算出法

$$(\text{対象試料の細胞増殖度}) = \frac{(\text{対象試料のアラマブルー還元率})}{(\text{ネガティブコントロールのアラマブルー還元率})}$$

X100 (%)

【0060】また、ここで算出した細胞増殖度を基にして、細胞増殖促進指標を下記式に従って算出した。

【数2】

(対象試料の細胞増殖促進指標)

$$= \frac{(\text{対象試料の細胞増殖度}) - (\text{ネガティブコントロールの細胞増殖度})}{(\text{ポジティブコントロールの細胞増殖度}) - (\text{ネガティブコントロールの細胞増殖度})}$$

このときネガティブコントロールの細胞増殖促進指標は0、
ポジティブコントロールの細胞増殖促進指標は1となる。

チゾン（0.5mg/ml）を2 μ l添加して調製した。

【0056】D. 対象物質培地交換：上記A、Bにおいてヒト毛包上皮系培養細胞及びラット毛包上皮系培養細胞を調製した96well-plate中のKGM培地を、対象物質添加培地及びコントロール培地（200 μ l/well）と交換して、交換後37℃、5%CO₂で2日間培養した。

【0057】なお、この培地の交換はウエル内のKGM培地を、底面に付着している細胞を傷つけないように留意しつつアスピレーターで抜いて、その後速やかに対象物質添加培地等をウエルの両端から添加することにより行った。

【0058】E. 細胞増殖の測定：アラマブルー（alar blue：アラマバイオサイエンス社製）を培地量（容量）に対して、1/10量を添加して、37℃（5%CO₂）で6時間インキュベートした。インキュベート後、系の595nm及び570nmでの吸光度をマイクロプレートリーダー（Micro plate reader: Bio RAD社製）を用いて測定し、下記計算式に従って、細胞増殖度を算出した。

【0059】

【数1】

【0061】F. 結果：測定した上記各対象物質における、上記細胞増殖度を下記第1表に示す。

【表1】

第 1 表

	抽出抽出エクス名	抽出法	毛包上皮系細胞増殖促進指標	
			ラット由来細胞	ヒト由来細胞
対象試料	コンフリー	30% エタノール抽出	1.2	0.8
	ウコン	30% エタノール抽出	1.1	0.8
	タイソウ	10% エタノール抽出	1.1	0.8
	サイシン	30% エタノール抽出	1.1	0.8
	ヨクイニン	水抽出	1.1	0.7
	メデバア	水抽出	0.9	0.7
	アセンヤク	60% エタノール抽出	0.9	0.7
	ムニアルゼリー	パウダー	0.9	0.7
	ゲンチアナ	30% エタノール抽出	0.8	0.7
	ボクソ	30% エタノール抽出	0.8	0.7
	メスネ	水抽出	0.8	0.7
	ヒキオコシ	水抽出	0.8	0.7
	アルニカ	30% エタノール抽出	0.8	0.6
	ハッカ	水抽出	0.8	0.6
	カンゾウノラボノイド	水抽出	0.7	0.6
	ブクリョウ	50% エタノール抽出	0.7	0.6
	ダイズ	100% エタノール抽出	0.7	0.6
	シソ	水抽出	0.7	0.6
	キナ	10% エタノール抽出	0.7	0.6
	スギナ	水抽出	0.7	0.6
	アンス核粒	水抽出	0.7	0.6
	カンゾウ抽出液	水抽出	0.7	0.5
	サンザシ	10% エタノール抽出	0.7	0.5
	チョウセンアサガサ	水抽出	0.7	0.5
	センキュウ	30% エタノール抽出	0.6	0.5
	ジイヒ	水抽出	0.6	0.5
	レイシ	水抽出	0.6	0.5
	テヨウジ	60% エタノール抽出	0.6	0.5
	コリアンダー	70% エタノール抽出	0.5	0.5
	トウト	60% エタノール抽出	0.5	0.5
対照試料	チャ	水抽出	0.0	0.0
	バクモンドウ	10% エタノール抽出	0.0	0.0

【0062】この結果より、上記成分に毛包上皮系培養細胞の増殖活性が確かに認められた。すなわち、上記成分には毛髪上皮系細胞の分裂増殖活性の維持による、毛髪における成長期の維持、延長作用が認められることが明らかになった。

【0063】〔試験例2〕 テストステロン-5 α -レダクターゼ阻害活性の測定：対象物質の5 α -レダクターゼの阻害作用を、テストステロンから、いわゆる作用型アンドロゲンと称される5 α -ジヒドロテストステロンへの変換に関与する、テストステロン-5 α -レダクターゼに対する阻害活性をin vitroで評価することで特定する試験について説明する。

【0064】テストステロン-5 α -レダクターゼ阻害活性に関する対象物質の効果は、高安らの方法〔S. Takayasu, K. Adachi, J. Clin. Endocrinol. Metab., 34, 1098-1101 (1972)〕に従って行うことができる。すなわち、人毛根を用い、テストステロンが5 α -ジヒドロテストステロン(5 α -DHTともいう)に還元される量を測定し、各対象物質(乾燥物)の0.1%, 70%エタノール溶液について、テストステロン-5 α -レダクターゼ阻害活性を測定し、以下の式に従って阻害率を求めることによって特定することができる。

【0065】

【数3】

$$\text{阻害率 (\%)} = 1 - \frac{\text{阻害剤を添加した時の5}\alpha\text{-DHT生成量}}{\text{阻害剤を添加しない時の5}\alpha\text{-DHT生成量}} \times 100$$

【0066】対象物質は、ジャンカン、ウォロ、レグロ、ダウン・トラフズ、コリアンダー、シャクヤク、ヨクイニン、ボケ、ヒワの各々の抽出物を用いた。なお、各抽出物は前述の抽出方法によりそれぞれ抽出した。例えば、シャクヤクの抽出物は、市販のシャクヤク(乾燥物)500gを、7.5lの水で5日間浸漬し、この抽出液から水を留去し、次いで乾燥させてシャクヤクの水抽出乾燥物100gを得た。また、対照としてサイコの抽出物を用いた。この結果を、第2表に示す。

【0067】

【表2】

第 2 表

被験試料 (試料濃度 wt%)	阻害率 (%)
	0.05
ジャンカン	88.1
ウオロ	81.4
レグロ	85.7
ダウン・トラウズ	86.7
コリアンダー	77.8
シャクヤク	76.2
ヨクイニン	73.2
ボケ	59.4
ヒワ	51.2
サイコ (対照)	7.4

【0068】この結果により、ジャンカン、ウオロ、レグロ、ダウン・トラウズ、コリアンダー、シャクヤク、ヨクイニン、ボケ及びヒワの各抽出物には、明らかに α -レダクターゼ阻害作用が認められた。

【0069】以下、本発明育毛剤の処方を実施例として示し、さらにこれらの育毛効果の検討を行った。

〔比較例〕 比較例としての液状育毛剤の調製
 上述したコンフリーの30%エタノール乾燥物0.1%を、70%エタノール90%、オレイン酸ナトリウム0.1%、ドデシルベンゼンスルホン酸0.49%、硬化ヒマシ油エチレンオキシド(40モル)付加物0.5%及びイオン交換水(残余)と混合攪拌して溶解させた。さらにイオン交換水(10%)を添加混合して、液状の養毛剤を得た(比較例2)。

【0070】この液状の養毛剤の処方において、上述したバクモンドウの10%エタノール抽出物の乾燥物0.1%を、上記のコンフリーの30%エタノール乾燥物0.1%に代えて調製した液状の剤を対照として調製した(比較例1)。また、上述したシャクヤクの水抽出乾燥物0.1%を70%エタノール90%、オレイン酸ナトリウム0.1%、ドデシルベンゼンスルホン酸0.4

9%、硬化ヒマシ油エチレンオキシド(40モル)付加物0.5%及びイオン交換水(残余)と混合攪拌して溶解させた。さらにイオン交換水(10%)を添加混合して、液状の養毛剤を得た(比較例3)。

【0071】〔実施例1〕 液状育毛剤の調製

上述したコンフリーの30%エタノール乾燥物0.05%と、シャクヤクの水抽出乾燥物0.05%を、70%エタノール90%、オレイン酸ナトリウム0.1%、ドデシルベンゼンスルホン酸0.49%、硬化ヒマシ油エチレンオキシド(40モル)付加物0.5%及びイオン交換水(残余)と混合攪拌して溶解させて、さらにイオン交換水(10%)を添加混合して、液状育毛剤を得た。

【0072】〔試験例3〕 本発明育毛剤の育毛作用の検討

本発明育毛剤の脱毛防止、発毛効果等の育毛作用を調べるために、以下の方法でヒトに対してトリコグラム試験及び実使用テストを実施した。被験試料及び対照試料は、実施例1の本発明育毛剤、比較例1～3の剤及び70%エタノールである。

【0073】試験方法

上記試料の使用前と使用後の抜去毛髪(毛根)を顕微鏡下で観察し、毛根の形態から、成長の止まった毛の毛根である「休止期毛根」数を計数し、その割合の増減によってこれらの試料の育毛作用を比較した。すなわち、被験試料及び対照試料をそれぞれ男性被験者10名の頭皮に1日2回、1回2mlずつ6カ月間連続して塗布し、塗布直前および6カ月間塗布終了直後に被験者1名につき100本ずつ毛髪を抜去し、それぞれの毛根を顕微鏡下で観察した。また、上記試料の育毛効果が有効か無効かに関する実使用テストを行った。

【0074】これらの試験の結果を、下記第3表に示す。

【表3】

第 3 表

試料 (対照及び育毛剤 番号)	休止期毛根の割合			育毛効果の 評価
	20%以上減少 (%)	±20%	20%以上増加 (%)	
対照(70%エタ ノール)	10	50	40	無効
比較例1	10	55	35	無効
比較例2	50	25	25	有効
比較例3	45	40	15	有効
実施例1	65	25	10	有効

【0075】この第3表の結果から、比較例1はもとより、成長期延長成分であるコンフリー抽出物又は5 α -レダクターゼ阻害成分であるシャクヤクの抽出物のいずれかを配合した比較例2及び3よりも、この2種類の抽出物を総量で同量配合した実施例1の育毛効果が相乗的に優れていることが判明した。このことより、作用機序

の異なる2種類の育毛成分を組み合わせる用いることにより、相乗的に育毛効果が向上した本発明育毛剤が提供される。

【0076】以下、上記の剤型以外の本発明育毛剤を実施例として例示する。

〔実施例2〕 乳液型育毛剤の調製

(配合成分)

配合量(重量%)

(A相)

コンフリー抽出乾燥物	0.5
シャクヤク抽出乾燥物	0.5
ポリオキシエチレン(60モル)付加硬化ヒマシ油	2.0
グリセリン	10.0
ジプロピレングリコール	10.0
1,3-ブチレングリコール	5.0
ポリエチレングリコール1500	5.0

(B相)

セチルイソオクタネート	10.0
スクワラン	5.0
ワセリン	2.0
プロピルパラベン	2.0

(C相)

カルボキシビニルポリマー1%水溶液	30.0
ヘキサメタリン酸ソーダ	0.03

イオン交換水 (D相)	8.35
イオン交換水 (E相)	4.5
カセイカリ	0.12
イオン交換水	5.0

【0077】<製造法>A相、B相をそれぞれ60℃で加熱溶解し、混合してホモキサー処理しゲルを調製し、これにD相を徐々に添加しホモキサーで分散した。次にこれに溶解したC相を加え、最後に溶解したE相を添加しホモキサーで乳化して、O/W乳液型の育

(配合成分)

(A相)

流動パラフィン	5.0
セトステアリルアルコール	5.5
グリセリルモノステアレート	3.0
EO(20モル)-2-オクチルドデシルエーテル	8.0
プロピルパラベン	0.3
香料	0.1

(B相)

コンフリー抽出乾燥物	0.5
シャクヤク抽出乾燥物	0.5
グリセリン	8.0
ジプロピレングリコール	20.0
ポリエチレングリコール4000	5.0
ドデシル硫酸ナトリウム	0.1
ヘキサメタリン酸ソーダ	0.005
イオン交換水	43.995

【0079】<製造法>A相、B相をそれぞれ加熱溶解して混合し、ホモキサーで乳化して、クリーム状養毛料を調製した。

【0080】

毛料を得た。

【0078】〔実施例3〕 クリーム状育毛剤の調製
上述のコンフリーの30%エタノール乾燥物0.5%と、シャクヤクの水抽出乾燥物0.5%を用いて、以下のようにクリーム状の実施例7を調製した。

配合量(重量%)

【発明の効果】本発明により、異なる作用機序の養毛成分を配合することによる相乗的な育毛作用を示す育毛剤が提供される。

【手続補正書】

【提出日】平成10年1月30日

【手続補正1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0039

【補正方法】変更

【補正内容】

【0039】B. ラット毛包上皮系細胞

1. ラット毛包上皮系細胞の採取:

(1) 毛包の採取

新生児(3~4日令)のラットの背部皮膚を採取し、この採取した背部皮膚を1%PSF含有PBS(-)に2枚ずつ浸した。その後、皮膚脂肪層から下の皮下脂肪や皮膜等を解剖用ハサミで除去した。次いで、再びこの背部皮膚を1%PSF含有PBS(-)に浸し、さらにこれを0.25%トリプシン含有PBS(-)(0.02%EDTA含む。以下、同様である。)中に4℃で一晩浸した。

フロントページの続き

(51)Int.Cl.⁶

識別記号

F I

A 6 1 K 35/78

A 6 1 K 35/78

J

Q

H

N

K

A D A

A D A R

35/84

35/84

A

(72)発明者 中沢 陽介

神奈川県横浜市港北区新羽町1050番地 株
式会社資生堂第 1 リサーチセンター内

(72)発明者 田島 正裕

神奈川県横浜市港北区新羽町1050番地 株
式会社資生堂第 1 リサーチセンター内